RESSALVA

Atendendo solicitação da autora,
o texto completo deste documento será
disponibilizado somente a partir de
07/07/2028.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Sorocaba

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO em
Ciências Ambientais

TANIA CAROLINA BENAVIDES CUASPUD

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO MICROENCAPSULADA DA ENZIMA FITASE COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTO DA BIODISPONIBILIDADE DE FÓSFORO PARA USO EM AQUICULTURA.

Sorocaba
2026

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Sorocaba

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO em
Ciências Ambientais

TANIA CAROLINA BENAVIDES CUASPUD

DESENVOLVIMENTO DE FORMULAÇÃO MICROENCAPSULADA DA ENZIMA FITASE COMO ESTRATÉGIA PARA AUMENTO DA BIODISPONIBILIDADE DE FÓSFORO PARA USO EM AQUICULTURA.

Dissertação apresentada como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" Área de Concentração Diagnóstico, Tratamento e Recuperação Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Fernandes Fraceto

Sorocaba
2026

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder força, sabedoria e perseverança para superar os desafios encontrados ao longo desta trajetória.

À minha família, pelo amor incondicional, pelo apoio constante e confiança depositada em mim durante todos os momentos desta caminhada. Em especial, aos meus pais, Hector e Leidiana, que sempre incentivaram minha formação acadêmica e pessoal, servindo de exemplo de dedicação, esforço e determinação. Agradeço por todos os sacrifícios realizados para que eu pudesse alcançar meus objetivos, pela confiança depositada em mim e por nunca permitirem que eu desistisse diante das dificuldades.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), pela oportunidade de realizar este mestrado e por proporcionar um ambiente de excelência para o desenvolvimento pessoal e profissional. O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. Processo nº 2024/07275-0.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Leonardo Fernandes Fraceto, minha sincera gratidão pela orientação, pela confiança e pelo apoio ao longo desta jornada. Agradeço pelos valiosos ensinamentos compartilhados, pela paciência, pela disponibilidade e pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa sob sua supervisão,

Aos pesquisadores e amigos do Laboratório de Nanotecnologia Ambiental da UNESP/Sorocaba, pelo convívio, pela troca de conhecimentos e pelo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho. Mais do que colegas de laboratório, vocês foram companheiros de jornada, contribuindo para tornar esta experiência mais leve, enriquecedora e especial. Em especial, à Patrícia, minha profunda gratidão pela amizade sincera, pelo carinho, pela paciência e pelo apoio constante ao longo desta jornada. Obrigada por estar presente não apenas nos momentos de trabalho e aprendizado, mas também nos desafios e nas conquistas que marcaram este período.

Aos amigos que, de diferentes formas, compartilharam momentos, incentivaram meu crescimento e tornaram essa trajetória mais leve e significativa. Meu sincero agradecimento pelo carinho, pelas conversas, pelas risadas e pelos momentos compartilhados

"O homem não pode descobrir novos oceanos se não
tiver a coragem de perder de vista a costa."
André Gide

RESUMO

A expansão global da aquicultura, projetada para um aumento de 13% até 2030, demanda a adoção de práticas sustentáveis que preservem a saúde dos ecossistemas aquáticos e a biodiversidade. Tal cenário intensifica a busca por ingredientes inovadores e sustentáveis em rações, com investimentos crescentes em componentes vegetais para substituir a farinha de peixe, visando reduzir custos e melhorar a sustentabilidade. Contudo, a utilização de dietas à base de plantas é desafiada pela presença de fatores antinutricionais (ANFs), como proteínas antigênicas, oligossacarídeos não digeríveis, e, notavelmente, o fitato. Este último, amplamente encontrado, forma complexos com elementos minerais e proteínas, o que reduz a biodisponibilidade de nutrientes essenciais. Em peixes monogástricos, a baixa biodisponibilidade do fósforo ligado ao fitato, agravada pela ausência de fitase intestinal, leva à deficiência de fósforo, resultando em impactos negativos como anorexia, crescimento reduzido e maior suscetibilidade a doenças. Adicionalmente, a alta liberação de fósforo e de nitrogênio não digeridos contribui para a eutrofização dos ambientes aquáticos. A suplementação enzimática, especialmente com fitase, apresenta-se como uma solução promissora. No entanto, sua eficácia é comprometida pela instabilidade térmica, visto que a peletização de rações ocorre em altas temperaturas, o que pode resultar em perdas de até 80% da atividade enzimática. Fatores como a umidade e a pressão também afetam sua funcionalidade. Com o objetivo de aumentar a estabilidade e a funcionalidade da fitase, no presente estudo foram desenvolvidas formulações líquidas e sólidas utilizando diferentes combinações de quitosana, pectina, alginato, goma arábica e gelatina. As formulações líquidas apresentaram diâmetro de partícula entre 266 e 6000 nm, IdP entre 0,3 e 0,6, potencial zeta superior a +30 mV e pH entre 4,85 e 5,0. A atividade enzimática variou de 11 a 39 U/mL, sendo observadas formulações com elevada estabilidade físico-química durante o armazenamento e atividade residual entre 82 e 85% após a simulação gastrointestinal. As formulações sólidas produzidas por spray drying apresentaram diâmetro médio entre 3,3 e 5,26 μm e recuperação da atividade enzimática superior a 90%. As análises por MEV revelaram micropartículas predominantemente esféricas ou subesféricas. Além disso, as formulações apresentaram baixos valores de atividade de água e de teor de umidade. Enquanto os espectros de FTIR confirmaram a preservação dos principais grupos funcionais da fitase e dos polímeros após o processo de encapsulação. Nos ensaios de estabilidade térmica, as formulações encapsuladas mantiveram entre 99,55 e 100% da atividade inicial após exposição a 95 °C, enquanto a fitase livre apresentou 77,03% de atividade residual. Na simulação gastrointestinal, algumas formulações preservaram até 100% da atividade inicial, superando o desempenho da enzima livre (82,21%). De modo geral, os resultados demonstram que a microencapsulação com biopolímeros naturais constitui uma estratégia eficiente para proteger a fitase frente às condições de processamento e digestão, evidenciando seu potencial de aplicação em rações aquícolas e para aumentar a biodisponibilidade do fósforo proveniente de ingredientes vegetais.

Palavras-chave: Nutrição Animal; Encapsulamento; Biopolímeros; Spray drying.

ABSTRACT

The global expansion of aquaculture, projected to increase by 13% by 2030, requires adopting sustainable practices that preserve aquatic ecosystems and biodiversity. This scenario has intensified the search for innovative, sustainable feed ingredients, with growing interest in plant-based alternatives to fishmeal to reduce costs and improve sustainability. However, the use of plant-derived feed ingredients is hindered by antinutritional factors (ANFs), particularly phytate, which forms complexes with minerals and proteins, thereby reducing the bioavailability of essential nutrients. In monogastric fish, the low availability of phytate-bound phosphorus, combined with the absence of endogenous intestinal phytase, can lead to phosphorus deficiency, impaired growth, and increased nutrient discharge into the environment. Although phytase supplementation is considered an effective strategy to improve phosphorus utilization and reduce environmental impacts, its application is limited by thermal instability during feed processing and by the harsh conditions of the gastrointestinal tract. To enhance phytase stability and functionality, liquid and solid formulations were developed using different combinations of chitosan, pectin, alginate, gum arabic, and gelatin. The liquid formulations exhibited particle sizes ranging from 266 to 6000 nm, polydispersity indices between 0.3 and 0.6, zeta potentials above +30 mV, and pH values between 4.85 and 5.0. Enzymatic activity ranged from 11 to 39 U/mL, and the selected formulations maintained high physicochemical stability during storage, with residual activities of 82-85% after simulated gastrointestinal digestion. The solid formulations produced by spray drying had mean particle sizes ranging from 3.3 to 5.26 μm and retained more than 90% of the initial phytase activity after drying. Scanning electron microscopy revealed predominantly spherical or subspherical microparticles, while FTIR analyses confirmed the preservation of the main functional groups of both phytase and the polymeric matrices after encapsulation. In addition, the formulations exhibited low water activity and moisture content, indicating favorable storage stability. Thermal stability assays demonstrated that the encapsulated formulations retained between 99.55 and 100% of their initial activity after exposure to 95 °C, whereas free phytase retained only 77.03%. Under simulated gastrointestinal conditions, some formulations preserved up to 100% of their initial activity, outperforming free phytase (82.21%). Overall, the results demonstrate that microencapsulation with natural biopolymers is an effective strategy for protecting phytase against processing and digestive stresses, highlighting its potential application in aquafeeds to improve phosphorus bioavailability from plant-based ingredients.

Keywords: Animal Nutrition; Encapsulation; biopolymers; Spray drying.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema gráfico para a preparação de formulações líquidas. 28
Figura 2. Esquema gráfico para a preparação de formulações solidas.....29
Figura 3. Esquema do percurso da fitase no trato gastrointestinal de peixes e dos principais fatores de desnaturação e hidrólise enzimática. 34
Figura 4. Curva analítica para a quantificação de fosfato. 37
Figura 5. Avaliação do diâmetro hidrodinâmico médio e índice de polidispersão utilizando a técnica DLS em função do tempo A) Diâmetro hidrodinâmico das formulações contendo óleo de girassol, B) Índice de polidispersão das formulações contendo óleo de girassol, C) Diâmetro hidrodinâmico formulações contendo óleo de girassol e Tween 80 e D) Índice de polidispersão formulações contendo óleo de girassol e Tween 80. Os valores são expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 43
Figura 6. Potencial zeta das formulações utilizando a técnica DLS em função do tempo (0-120 dias). A) Potencial zeta formulações contendo óleo de girassol, B) Potencial zeta formulações contendo óleo de girassol e Tween 80. Os valores são expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 47
Figura 7. Valores de pH das formulações ao longo do tempo de armazenamento (0–120 dias). A) pH das formulações contendo óleo de girassol, B) pH das formulações contendo óleo de girassol e Tween 80. Os valores são expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). 52
Figura 8. Atividade enzimática das formulações durante o armazenamento (0–120 dias). (A) Formulações contendo óleo de girassol. (B) Formulações contendo óleo de girassol e Tween 80. Os valores são expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). A linha tracejada representa o valor médio da atividade da fitase comercial não encapsulada (controle). 53
Figura 9. Espectros de FTIR obtidos na faixa de 4000–1000 cm ^{1}. Formulações contendo óleo: A) P3 (CS1%-ALG0,5%) e P5 (CS2%-ALG0,5%), B) P11 (CS1%-PEC1%) e P12 (CS2%-PEC1%) e com adição de óleo e tw80: C) P16 (CS1%-ALG0,5%) e P18 (CS2%-ALG0,5%), D) P21 (CS1%-PEC1%) e P22 (CS2%-PEC1%).....55
Figura 10. Atividade residual da fitase após simulação gastrointestinal in vitro das formulações liquidas. (A) Formulações contendo óleo de girassol. (B) Formulações contendo óleo de girassol e Tween 80. As barras representam a média ± desvio padrão ($n = 3$). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).....58
Figura 11. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV). A) F6 (GEL-CS), B) F14 (PEC-GEL), C) F18 (PEC-GOM), D) F24 (GOM-GEL) e E) F26 (ALG-GEL) (ampliação de 5000×). As setas indicam fragmentos da matriz polimérica. GEL: Gelatina, CS: Quitosana, PEC: Pectina, ALG: Alginato

de sódio, GOM: Goma 66
Figura 12 Valores da atividade enzimática (U/g) das formulações solidas, avaliadas durante 120 dias. Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).....69
Figura 13. Atividade residual das formulações sólidas encapsuladas após tratamento térmico a 95 °C. O controle corresponde à fitase livre. Os valores representam média ± desvio padrão (n = 3). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).....72
Figura 14. Espectros de FTIR obtidos na faixa de 4000–1000 cm ¹ das formulações solidas: F6 (GEL-CS), F14 (PEC-GEL), F18 (PEC-GOM), F24 (GOM-GEL) e F26 (ALG-GEL). 73
Figura 15. Atividade residual da fitase após simulação gastrointestinal in vitro das formulações sólidas. As barras representam a média ± desvio padrão (n = 3). Letras diferentes indicam diferença significativa pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).....75

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Polímeros naturais não tóxicos, com potencial aplicação em aquicultura.....19
Tabela 2. Parâmetros de secagem para o preparo de micropartículas contendo a fitase. 29
Tabela 3. Limite de detecção e limite de quantificação dos métodos analíticos para. 38
Tabela 4. Caracterização físico-química das formulações líquidas preparadas com quitosana (CS), alginato (ALG), pectina (PEC) e goma (GOM). 39
Tabela 5. Recuperação da atividade da fitase (U/mL) e eficiência de encapsulação (%) das formulações liquidas. 40
Tabela 6 . Valores do diâmetro hidrodinâmico obtidos pela técnica do Master Sizer. 49
Tabela 7. Valores do diâmetro médio utilizando a técnica NTA. 50
Tabela 8. Valores de diâmetro médio das técnicas DLS, Mastersizer e NTA.....51
Tabela 9. Efeito das diferentes matrizes poliméricas e temperaturas de secagem por aspersão sobre o rendimento em pó (%) e a recuperação da atividade enzimática (%) da fitase encapsulada. 60
Tabela 10. Potencial zeta das micropartículas de fitase. 62
Tabela 11. Resumo das características e mecanismos que podem estar envolvidos na formação das partículas sólidas selecionadas contendo fitase. Rendimento em pó e recuperação de atividade enzimática são expressos em %. 63
Tabela 12. Valores do diâmetro hidrodinâmico utilizando a técnica do MasterSizer. 64
Tabela 13. Valores do diâmetro hidrodinâmico obtidos por meio da técnica do Master Sizer e do MEV. 67
Tabela 14. Valores de atividade de água (aW) e teor de umidade das micropartículas produzidas por spray drying.....70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALG: Alginato de Sódio

ANOVA: Análise de Variância

ANOVA: Análises de variância

aW: Atividade da água

CS: Quitosana

DLS: espalhamento dinâmico de luz

FAO: Food and Agriculture Organization

FTIR: Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

GEL: Gelatina

GOM: Goma arábica

MEV: Microscopia Eletrônica de Varredura

PEC: Pectina

Rpm: revoluções por minuto

SGI: Simulação Gastrointestinal

UV-Vis: Espectroscopia no Ultravioleta Visível

SUMARIO

1. INTRODUÇÃO 14
1.2. Fitase na nutrição de peixes 16
1.3. Encapsulamento de fitase 17
1.4. Matrizes de encapsulação 18
1.4.1. Goma arábica. 20
1.4.2. Maltodextrina 20
1.4.3. Sacarose 20
1.4.4. Quitosana 20
1.4.5. Pectina 21
1.4.6. Alginato 21
1.4.7. Gelatina 21
1.4.8. Zeina 22
1.5. Sistemas líquidos para encapsulação de enzimas. 22
1.6. Secagem por pulverização (Spray-dryer). 23
2. OBJETIVOS 25
2.1. Objetivos específicos. 25
3. MATERIAIS E MÉTODOS 26
3.1. Materiais 26
3.2. Metodologia de quantificação de fosfato (método colorimétrico). 26
3.2.1. Limite de detecção e quantificação 27
3.3. Preparo das formulações 28
3.3.1. Preparo das formulações líquidas. 28
3.3.2. Preparo das formulações sólidas. 29
3.4. Caracterização do tamanho de partícula. 30
3.5. Determinação do potencial zeta. 30
3.6. Potencial hidrogeniônico (pH). 30
3.7. Determinação da atividade da fitase. 30
3.8. Recuperação da atividade fitásica 31
3.9. Rendimento da formulação no spray dryer 32
3.10. Atividade de água e teor de umidade. 32
3.11. Avaliação da estabilidade térmica da fitase. 32
3.12. Microscopia eletrônica de varredura. 33
3.13. Espectroscopia de infravermelho. 34
3.14. Simulação in vitro das condições de pH gástrico de peixes e resistência à proteólise 34

3.15. Análise estatística 36
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 37
4.1. Metodologia de quantificação de fosfato (método colorimétrico). 37
4.2. Estabilidade físico-química das formulações líquidas e sólidas 38
4.2.1. Caracterização físico-química e estabilidade das formulações líquidas 38
4.2.1.1. Diâmetro hidrodinâmico e índice de polidispersão. 42
4.2.1.2. Potencial Zeta 47
4.2.1.3. Caracterização do tamanho de partícula por difração a laser (Mastersizer) 48
4.2.1.4. Tamanho e concentração de nanopartículas em NTA 50
4.2.1.5. Potencial hidrogeniônico (pH) 52
4.2.1.6. Atividade enzimática. 53
4.2.1.7. Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) 55
4.2.1.8. Simulação in vitro das condições de pH gástrico de peixes e resistência à proteólise 58
4.2.2. Avaliação do desempenho e caracterização físico-química das formulações sólidas 60
4.2.2.1. Caracterização do tamanho de partícula por difração a laser (Mastersizer) 64
4.2.2.2. Caracterização morfológica das micropartículas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) 65
4.2.2.3. Atividade enzimatica 68
4.2.2.4. Atividade de água (aW) e umidade 69
4.2.2.5. Avaliação da estabilidade térmica da fitase. 71
4.2.2.6. Espectroscopia de infravermelho. 73
4.2.2.7. Simulação intestinal e resistência à proteólise. 75
5. CONCLUSÃO 77
6. REFERÊNCIAS 79

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a aquicultura vem se destacando como o setor de produção alimentar de maior expansão global, sendo amplamente reconhecida pelo seu papel imprescindível na nutrição humana, ao fornecer uma fonte de proteína de alta qualidade (FAO, 2024). A indústria de pescado (incluindo pesca e aquicultura) tem registrado crescimento constante, à medida que a demanda global por proteína de peixe aumenta anualmente. Este fenômeno é impulsionado tanto pelo crescimento populacional quanto pela preferência crescente dos consumidores por produtos alimentares saudáveis (FAO, 2022). Entre 1961 e 2023, o consumo global de alimentos provenientes de fontes aquáticas aumentou a uma média anual de 3,1%, quase o dobro da taxa de crescimento populacional mundial de 1,6% no mesmo período. O consumo per capita de alimentos aquáticos cresceu aproximadamente 1,4% ao ano, passando de 9,2 kg (peso vivo equivalente) em 1961 para 21,1 kg em 2023 (FAO, 2026)

Essa elevação no consumo é atribuída a várias razões, incluindo o aumento da renda e urbanização, a melhoria dos canais logísticos de distribuição e técnicas de armazenamento mais eficazes, e principalmente o considerável aumento na produção da aquicultura. Em 2024, a produção mundial de animais aquáticos atingiu 195 milhões de toneladas, com um aumento de 5,4% em relação a 2022. A aquicultura produziu cerca de 103 milhões de toneladas, correspondendo a aproximadamente 52,8% do total, consolidando-se como o principal setor produtivo. Por sua vez, a pesca extrativa contribuiu com 92 milhões de toneladas, representando cerca de 47,2% da produção global. O valor da primeira venda da produção global de animais aquáticos em 2024 foi estimado em US$ 545 bilhões, dos quais US$ 371 bilhões foram provenientes da aquicultura (FAO, 2026).

No Brasil, a aquicultura vem crescendo de forma consistente nos últimos anos, com perspectivas de forte expansão no futuro. O país destaca-se por suas vastas áreas propícias ao cultivo em ambientes continentais e marinhos, além de condições climáticas favoráveis e de um setor agropecuário robusto, capaz de fornecer insumos. Além disso, há uma ampla diversidade de espécies marinhas e de água doce adequadas ao cultivo (VALENTI *et al*., 2021). No Brasil, a produção comercial é liderada por espécies de água doce, como tilápia e tambaqui, carpas e pacu. Na aquicultura marinha, os principais destaques incluem o camarão *Litopenaeus vannamei* e o cultivo de moluscos bivalves, como mexilhões e ostras (UMMUS *et al*., 2025). De acordo com o IBGE, no ano de 2022, a produção da piscicultura brasileira foi de 617,337 toneladas, sendo que 83,49% desta produção foi de peixes, seguida de 15,32% de camarões e 1,18% de ostras, vieiras e mexilhões (IBGE, 2022).

Para maximizar o potencial da aquicultura brasileira, é crucial intensificar os estudos, especialmente nas espécies de água doce e camarões marinhos, e expandir a pesquisa sobre peixes marinhos. A dependência da pesca de ingredientes essenciais nas rações destinadas a espécies de alto valor agregado, como camarões e peixes marinhos, ressalta a necessidade urgente de substituição por alternativas sustentáveis (ZLAUGOTNE *et al.*, 2022). A utilização de ingredientes alternativos e de suplementos, incluindo minerais, enzimas e vitaminas, é fundamental para melhorar o desempenho dos animais. Além disso, é essencial compreender o manejo adequado e as necessidades nutricionais específicas de cada espécie cultivada, pois os custos de alimentação representam uma parcela significativa dos gastos do setor. Portanto, aplicar corretamente o conhecimento disponível é crucial para maximizar o desempenho e os lucros na aquicultura (ZLAUGOTNE *et al.*, 2022; OLIVA-TELES *et al.*, 2022).

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que a microencapsulação é uma estratégia eficiente para aumentar a estabilidade da fitase e preservar sua atividade enzimática frente às condições adversas encontradas durante o processamento e utilização em rações aquícolas. A composição da matriz encapsulante exerceu influência direta sobre as propriedades físico-químicas das partículas, a recuperação da atividade enzimática e a capacidade de proteção da enzima frente a estresses térmicos e às condições simuladas do trato gastrointestinal dos peixes.

Nas formulações líquidas, a presença do surfactante Tween 80 favoreceu significativamente a recuperação da atividade da fitase após o processo de encapsulação, resultando em atividades enzimáticas próximas às observadas para a enzima livre. Além disso, as formulações selecionadas mantiveram estabilidade físico-química durante o armazenamento, apresentando variações reduzidas de diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão, potencial zeta e pH. Entre os sistemas avaliados, as formulações P18 (CS2%-ALG0,5%) e P21 (CS1%-PEC1%) destacaram-se por apresentarem elevada recuperação da atividade enzimática, maior homogeneidade das partículas e melhor estabilidade ao longo do período de armazenamento. Assim mesmo, ambas mantiveram mais de 80% da atividade após a simulação gastrointestinal, evidenciando a capacidade das matrizes poliméricas em proteger parcialmente a enzima durante sua passagem por condições adversas de pH.

Por outro lado, as formulações sólidas obtidas por spray drying presentaram uma recuperação da atividade enzimática superior a 90%, baixos valores de atividade de água e o teor de umidade o que indicam condições favoráveis à estabilidade durante o armazenamento. O ensaio de estabilidade térmica evidencio a elevada capacidade de proteção com valores próximos 100% de recuperação da atividade inicial, enquanto a fitase livre apresentou apenas 77% de atividade residual. De forma semelhante, na simulação gastrointestinal, as formulações apresentaram uma recuperação entre 71 e 100%. Considerando conjuntamente os resultados, conclui-se que as formulações F24 (GOM-GEL) e F6 (GEL-CS) apresentaram o melhor desempenho entre os sistemas sólidos. Em especial, a formulação F6 destacou-se como a mais promissora do estudo por combinar elevado rendimento de encapsulação (73,6%), aliado à quase total preservação da atividade enzimática (99%), à estabilidade térmica completa (100%) e à alta eficiência de proteção durante a simulação gastrointestinal (95%). Esses resultados evidenciam não apenas a robustez da formulação, mas também seu elevado potencial de aplicação prática.

Dessa forma, os resultados obtidos neste estudo demonstram que a microencapsulação da fitase com biopolímeros naturais representa uma alternativa viável para aumentar a estabilidade da enzima e ampliar seu potencial de aplicação na aquicultura. As formulações selecionadas apresentam características favoráveis para futuras avaliações *in vivo*, podendo contribuir para melhorar o aproveitamento do fósforo presente em ingredientes vegetais, reduzir a suplementação de fósforo inorgânico e minimizar os impactos ambientais associados à excreção de nutrientes nos sistemas aquícolas.

6. REFERÊNCIAS

ABDELSALAM, A., *et al*. Surface-Tailored Zein Nanoparticles: Strategies and Applications. **Pharmaceutics.** 2021. vol. 13, no. 9, pp. 1-25. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics1309135

AKHAVAN, S., *et al*. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 85, p. 379- 385, 2016. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011

ANCHIA, Iciar Astiasarán; Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria. Ediciones Díaz de Santos, 2003. pg. 11

ASGHER, M., *et al*. Enhancement of catalytic, reusability, and long-term stability features of *Trametes versicolor* laccase immobilized on different polymers. **International Journal of Biological Macromolecules**, 95, 54–62. 2017. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.012

ASTOLFI, Z., *et al*. Encapsulation of passion fruit juice by co-crystallization with sucrose: crystallization kinetics and physical properties. **Food Sci. Technol**. 2005. https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400027.

AVADI, M. *et al.* Preparation and characterization of insulin nanoparticles using chitosan and Arabic gum with ionic gelation method. **Nanomedicine: Nanotechnology**, Biology and Medicine, v. 6, n. 1, p. 58–63, fev. 2010. https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.04.007.

BARUAH, K. et al. Dietary Phytase: an ideal approach for a cost effective and low-polluting aquafeed. The WorldFish Center. Vol. 27 No. 3-4 Jul-Dec 2004.. http://hdl.handle.net/20.500.12348/2061

BHATTACHARYYA, A., et al. Nanotechnology-a unique future technology in aquaculture for the food security. **International Journal of Bioassays**, 2015, vol. 4, no 7, p. 4115-4126.

BLAS, S. Encapsulamento de fagos em esferas de alginato para administração de terapia fágica em aquicultura contra vibriões. Dissertação (Graduação), Facultad de Ciencias

de la Universidad de Chile, Santiago – Chile, 2023. https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/194462

BRAGA, A. Elaboração e caracterização de filmes coacervados à base de gelatina/quitosana, gelatina/pectina e gelatina/goma arábica. 2013. 243 p. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2013. DOI: https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2013.912299

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, Resolução da diretoria colegiada - RDC Nº 166 (24 julio 2017). Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências [en línea]. n.10, pp. 1–21.

BUSTO, M. et al. Microencapsulation of a Commercial Food-Grade Protease by Spray Drying in Cross-Linked Chitosan Particles. Foods, v. 11, n. 14, p. 2077, 13 jul. 2022. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/foods11142077.

CALVO, P.,et al. Novel hydrophilic chitosan–polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. Applied Polymer Science, 63(1), 125–13 1997.

CAMARA, M. et al. Enzyme Stimuli–Responsive Nanoparticles for Bioinsecticides: an emerging approach for uses in crop protection. Acs Sustainable Chemistry & Engineering, v. 9, n. 1, p. 106-112, 23 dez. 2020. American Chemical Society (ACS). http://dx.doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c08

CAO, L. et al. Application of microbial phytase in fish feed. Enzyme And Microbial Technology. 40, n. 4, p. 497-507, mar. 2007. http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2007.01.007.

CAO, L. et al. Effects of pretreatment with microbial phytase on phosphorous utilization and growth performance of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). Aquaculture Nutrition, v. 14, n. 2, p. 99-109, abr. 2008. Hindawi Limited. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00508.x.

CASTELO, R. et al. Gelificação iônica: técnica eficaz para encapsulação de compostos ativos - uma revisão. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. v. 18. n. 1. 2020. http://dx.doi.org/10.5892/ruvrd.v1i18.5695

CHEN, H et al. Nanotechnologies in agriculture: new tools for sustainable development. Trends In Food Science & Technology, v. 22, n. 11, p. 585-594, nov. 2011. http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2011.09.004

CHIMPHANGO, Annie F.A. et al. Isolation, characterization and enzymatic modification of water soluble xylans from Eucalyptus grandis wood and sugarcane bagasse. **Journal Of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 87, n. 10, p. 1419-1429, 24 fev. 2012. Wiley. http://dx.doi.org/10.1002/jctb.3761

CHOUDHURY, Nitamani; MEGHWAL, Murlidhar; DAS, Kalyan. Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. **Food Frontiers**, v. 2, n. 4, p. 426–442, dez. 2021.

COOK, Michael et al. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. **J Control Release**. 2012 Aug 20;162(1):56-67. doi: 10.1016/j.jconrel.2012.06.003. Epub 2012 Jun 11. PMID: 22698940.

COSTA, S. *et al.* Drying by spray drying in the food industry: Microencapsulation, process parameters and main carriers used. **African Journal of Food Science.** v. 9, n. 9, 462-470, 2015. DOI: 10.5897/AJFS2015.1279.

COSTANTINO, H. et al. Protein Spray-Freeze Drying. Effect of Atomization Conditions on Particle Size and Stability. **Pharmaceutical Research**, v. 17, n. 11, p. 1374–1382, nov. 2000.

COUTINHO, Thamara C.; TARDIOLI, Paulo W.; FARINAS, Cristiane S. Phytase Immobilization on Hydroxyapatite Nanoparticles Improves Its Properties for Use in Animal Feed. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 190, n. 1, p. 270–292, jan. 2020.

DA SILVA, J. Microemulsions: components, characteristics, potentialities in food chemistry and other applications. Quim. Nova, Vol. 38, No. 9, 1196-1206, 2015 https://doi.org/10.5935/0100-4042.20150135

DA SILVA, V. Preparação e caracterização de bionanocompósitos à base de gelatina e magnetita reticulados com sacarose. Dissertação (Mestrado), Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Química. Rio de Janeiro. 2012

DE SOUZA, Alana G. et al. Hidrogéis Compósitos de Goma Arábica Contendo Resíduos de Eucalipto e Pinus. **Seminario de Inicíciação cientifica**, v. 29, 2019.

DANAEI, M., et al. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. **Pharmaceutics**, 10(2), 57. 2018 https://doi.org/10.3390/pharmaceutics10020057

DANILOVA, Maria A. et al. Encapsulated Phytase Produced by Recombinant Yarrowia lipolytica Exhibits High Efficiency on Broiler Chickens in Low Dosage. **Applied Science**s, v. 12, n. 23, p. 11999, 24 nov. 2022. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/app122311999

DAS, D. Study on Water Quality for Management of Pond Fish Culture. **International Journal of Basic and Applied Biology**. v. 6, p. 235-245, Jul. 2019.

DASHEVSKY, A. et al. Protein loss by the microencapsulation of an enzyme (lactase) in alginate beads. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 161, n. 1, p. 1-5, fev. 1998. http://dx.doi.org/10.1016/s0378-5173(97)00172-5.

DEGROOT, A. et al. Encapsulation of urease in alginate beads and protection from α-chymotrypsin with chitosan membranes. **Enzyme And Microbial Technology**, v. 29, n. 6-7, p. 321-327, out. 2001. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/s0141-0229(01)00393-3.

DEZFOOLI, S. et al. Encapsulation for delivering bioactives in aquaculture. **Reviews In Aquaculture**, v. 11, n. 3, p. 631-660, 19 abr. 2018. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/raq.12250.

ENGELEN, A. et al. Determination of Phytase Activity in Feed by a Colorimetric Enzymatic Method: collaborative interlaboratory study. **Journal Of Aoac International**, v. 84, n. 3, p. 629-633, 1 maio 2001. Oxford University Press (OUP). http://dx.doi.org/10.1093/jaoac/84.3.629.

ELMIZADEH, Ameneh *et al.* Fabrication and characterization of pectin-zein nanoparticles containing tanshinone using anti-solvent precipitation method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 260, p. 129463, mar. 2024.

ERDOĞAN, Ümit; GÖKÇE, Evren Homan. Fig seed oil-loaded nanostructured lipid carriers: Evaluation of the protective effects against oxidation. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45, n. 10, out. 2021.

FREITAS, Williane Da Silva. Synthesis and characterization of amphiphilic aerogels based on acrylamide and sunflower oil destined for oil removal. 2017.

FAJARDO, C. et al. Nanotechnology in aquaculture: applications, perspectives and regulatory challenges. **Aquaculture And Fisheries**, v. 7, n. 2, p. 185-200, mar. 2022. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.aaf.2021.12.006.

FAO. O estado da pesca e da aquicultura mundial. 2022. Rumo à transformação azul. Roma. 2022. pp.16. Disponível na Internet: https://doi.org/10.4060/cc0461es ISSN 2663-8649

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2024** – Blue Transformation in action. Rome. 2024. https://doi.org/10.4060/cd0683en

FAO. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2026** – Blue Transformation: turning vision into impact. Rome. 2026. https://doi.org/10.4060/cd8357en

FERNANDES, V. *et al*. Atratividade e palatabilidade de ração encapsulada de isolado pro-teico de soja, maltodextrina e goma arábica para alevinos de tilápia do Nilo (Oreochromis niloticus). ***Observatório De La Economía Latinoamericana***. 2024. https://doi.org/10.55905/oelv22n5-132

FERREIRA A. Elaboração e caracterização de filmes coacervados à base de gelatina/quitosana, gelatina/pectina e gelatina/goma arábica. 2013. 243 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2013.912299

FJELLDAL, Per Gunnar et al. Inadequate phosphorus nutrition in juvenile Atlantic salmon has a negative effect on long-term bone health. **Aquaculture**, v. 334-337, p. 117-123, mar. 2012.. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.12.043.

GAN, Q. et al.. Chitosan nanoparticle as protein delivery carrier – systematic examination of fabrication conditions for efficient loading and release. **Colloids and Surfaces** B: Biointerfaces, 59(1), 24–34.2007. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2007.04.009

GOMES, N. Microencapsulação de extrato do resíduo de seriguela (Spondias purpúrea L.) usando maltodextrina, goma arábica e soro de leite: desenvolvimento e caracterização. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal Rural De Pernambuco, Programa De Pós-Graduação Em Ciência E Tecnologia De Alimentos, Recife, 2020.

GONSALVES, Arlan De Assis *et al.* Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1215–1223, 2011.

HACKENHAAR, C. Desenvolvimento de uma matriz de alginato e gelatina entrecruzada com genipina para imobilização de β-galactosidase. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. 2021. http://hdl.handle.net/10183/230845

HARLAND, B. Fermentative reduction of phytate in rye, white, and whole wheat breads. **Cereal Chemistry**. pág. 4 , 1980

HASSAAN, Mohamed S. et al. Exogenous xylanase improves growth, protein digestibility and digestive enzymes activities in Nile tilapia, Oreochromis niloticus, fed different ratios of fish meal to sunflower meal. **Aquaculture Nutrition**, v. 25, n. 4, p. 841-853, 2 abr. 2019.. http://dx.doi.org/10.1111/anu.12903.

HONARY & ZAHIR. Effect of zeta potential on the properties of nano-drug delivery systems – A review (Part 1). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 12(2), 255–264. 2013. https://doi.org/10.4314/tjpr.v12i2.19

HONORATO C., *et al*. Growth and survival of *Piaractus mesopotamicus* larvae fed of micro diets. **R. bras. Ci. Vet**. v. 23, n. 1-2, p.71-75. 2016. http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2016.033.

HUANG, S. et al. Nanotechnology in agriculture, livestock, and aquaculture in China. A review. **Agronomy For Sustainable Development**, v. 35, n. 2, p. 369-400, 31 dez. 2014. http://dx.doi.org/10.1007/s13593-014-0274-x.

HUANG, Y., *et al*. Influence of processing conditions on the physical properties, retention rate, and antimicrobial activity of cinnamaldehyde loaded in gelatin/pectin complex coacervates. **Food Biophysics**, v. 17, n. 3, p. 289-301, 17 fev. 2022. http://dx.doi.org/10.1007/s11483-022-09718-x

HUYNH, T. et al. Optimization of the Microencapsulation of Lemon Myrtle Oil Using Response Surface Methodology. **Drying Technology**. v. 26, n. 3, p. 357-368. 2008. https://doi.org/10.1080/07373930801898182

IAN Li, *et al*. Fabrication and characterization of Ca(II)-alginate-based beads combined with different polysaccharides as vehicles for delivery, release and storage of tea polyphenols, **Food Hydrocolloids,** Volume 112, 2021, https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106274.

IBGE. Producción acuícola brasileña. 2022. Disponível na Internet: https://www.embrapa.br/en/cim-centro-de-inteligencia-e-mercado-em-aquicultura/producao-brasileira/categorias

ISLAS, R. "Alimentos Microencapsulados: Particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas." **Avances en Nutrición Acuicola**. 2002. https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/249

JAHAN, P. et al. A laboratory-based assessment of phosphorus and nitrogen loading from currently available commercial carp feeds. **Fisheries Science,** v. 68, n. 3, p. 579-586, jun. 2002. Japanese Society of Fisheries Science. http://dx.doi.org/10.1046/j.1444-2906.2002.00464.x.

JIMÉNEZ E., et al. Nanoparticles as a novel delivery system for vitamin C administration in aquaculture. Aquaculture, v. 432, p. 426-433, ago. 2014. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.006

JOUDAKI, H. et al., Microbial Phytases: Properties and Applications in the Food Industry. **Current Microbiology**, v. 80, n. 12, p. 374, 2023.

KOELEMAN E. El mercado de enzimas. 2019. Disponible en: https://www.allaboutfeed.net/animal-feed/feed-additives/feed-enzymes-market-worth-over-%E2%80%892bn-by-2024/.

KUMAR, V. et al. Management of Environmental Phosphorus Pollution Using Phytases: current challenges and future prospects. **Applied Environmental Biotechnology**:

Present Scenario and Future Trends, p. 97-114, 2015. Springer India. http://dx.doi.org/10.1007/978-81-322-2123-4_7.

KUMAR, V. et al. Phytate and phytase in fish nutrition. **Journal Of Animal Physiology And Animal Nutrition**, v. 96, n. 3, p. 335-364, 21 jun. 2011. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0396.2011.01169.x.

LIANG, Qingping et al. Application of enzymes as a feed additive in aquaculture. **Marine Life Science & Technology**, v. 4, n. 2, p. 208-221, 19 abr. 2022. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s42995-022-00128-z.

LUCHINI, L. et al,. Perspectivas en acuicultura: nivel mundial, regional y local. Dirección de Acuicultura, Subsecretaría de Pesca y Acuicultura, SAGPyA, Buenos Aires, 2008. Disponível na Internet: https://www.produccion-animal.com.ar/produccion_peces/piscicultura/113-perspectivas.pdf

LAHIJI, Sima *et al.* Improved thermal stability of phytase from Yersinia intermedia by physical adsorption immobilization on amino-multiwalled carbon nanotubes. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 44, n. 10, p. 2217–2228, out. 2021.

LI, Zhiying *et al.* Fluorescence quenching mechanism of NIR AuNCs with hydrogen bond mediated electron transfer and integrated smartphone for rapid detection of tannic acid and temperature. **Microchemical Journal**, v. 221, p. 116765, fev. 2026.

Li B, *etal.* Study of the encapsulation efficiency and controlled release property of whey protein isolate-Polysaccharide complexes in W1/O/W2double emulsions. **International Journal of Food Engineering** 7(3). 2011. https://doi.org/10.2202/1556-3758.2321.

LOZANO, Juan Antonio Álvarez *et al.* REMOCIÓN DE COLORANTES AZO CON ALGINATO: RELACIÓN ENTRE ESTRUCTURA DE COLORANTE Y EFICIENCIA DE REMOCIÓN. **Revista Internacional de Contaminación Ambiental**, v. 35, n. 1, p. 223–236, 1 fev. 2019.

MIRHOSSEINI, et al. Effect of Arabic gum, xanthan gum and orange oil contents on ζ-potential, conductivity, stability, size index and pH of orange beverage emulsion. Colloids and Surfaces A**: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 315, n. 1–3, p. 47-56, 2008. ISSN 0927-7757. https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.07.007.

MOHAMMED, N., et al. Spray Drying for the Encapsulation of Oils—A **Review. Molecules**, v. 25, n. 17, p. 3873, 26 ago. 2020. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/molecules25173873.

MONTEIRO, Renata., Efeito da enzima proteolítica tripsina sobre liberação de compostos botânicos de nanopartículas de zeína.Tesis (Maestria en Ciencias Ambientales), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Sorocaba. 2018, p.52. Disponible en internet: http://hdl.handle.net/11449/191996

MOORE, L., et al. Association of dietary phosphate and serum phosphorus concentration by levels of kidney function. The American Journal Of Clinical Nutrition, [S.L.], v. 102, n. 2, p. 444-453, ago. 2015. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.3945/ajcn.114.102715.

MORÓN, M. et al. Encapsulation of bioactive compounds of food interest: applications, current advances, challenges, and opportunities. **Agro Productividad**. 2022. https://doi.org/10.32854/ agrop.v15i10.2407

NASCIMENTO, Bárbara Zon; COSTA, Ana Paula Oliveira. Hidroxilação dos óleos de girassol, milho e crambe e caracterização química dos polióis vegetais obtidos. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 25, n. 3, p. e-12787, 2020.

NASR-ELDAHAN, S., et al. A review article on nanotechnology in aquaculture sustainability as a novel tool in fish disease control. **Aquaculture International**, v. 29, n. 4, p. 1459-1480, 5 mar. 2021. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s10499-021-00677-7.

NEVES, B. Estudo da encapsulação de micropartículas de PVAc-co-MMA com gelatina e goma arábica. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2020. x, 77 p.; Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2020. http://hdl.handle.net/11422/12584

OLIVA-TELES, A. et al. Replacing fish meal and fish oil in industrial fish feeds. **Feed And Feeding Practices In Aquaculture**, p. 231-268, 2022. Elsevier. http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-821598-2.00011-4.

PATHAKOTI, K., et al. Nanostructures: current uses and future applications in food science. Journal Of Food And Drug Analysis, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 245-253, abr. 2017. The **Journal of Food and Drug Analysis**. http://dx.doi.org/10.1016/j.jfda.2017.02.004.

PARMA, L. et al. Effects of calcium carbonate inclusion in low fishmeal diets on growth, gastrointestinal pH, digestive enzyme activity and gut bacterial community of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) juveniles. **Aquaculture,** v. 510, p. 60–69, 2019. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.05.064

PEREIRA, A., et al,. Polymers as Encapsulating Agents and Delivery Vehicles of Enzymes. **Polymers,** 13(23), 4061. 2021.. https://doi.org/10.3390/polym13234061

PROENÇA, Patricia., Sistema nanocarreador de zeina para compostos bioativos (óleo de menta, cipermetrina, clorpirifós e amitraz) visando controle do carrapato bovino.Tesis (Maestria en Ciencias Ambientales), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Sorocaba. 2018, p.52. Disponible en internet: http://hdl.handle.net/11449/154461119

RANGEL, R. et al. Immobilization of lipase from *Candida antarctica* on chitosan-gelatin supports. Rev. Colomb. Quím., 2011, 40(2): 149-164. http://www.scielo.org.co/pdf/rcq/v40n2/v40n2a2.pdf

RATHNAYAKE, U. et al. Rice bran nanofiber composites for stabilization of phytase. Chemistry Central Journal, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-19, 14 mar. 2018. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1186/s13065-018-0400-y.

RHAMDANI, A., et al. Optimization and synthesis of etoricoxib-loaded low molecular weight chitosan nanoparticles**.** ***Cienc. Rural***. 2022. https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20210656 linkcopy

REYES-AVALOS, Walter *et al.* Effect of dietary chitosan on the growth, survival, and prophenoloxidase of male freshwater prawns Cryphiops (Cryphiops) caementarius. **Aquaculture Reports**, v. 33, p. 101840, dez. 2023.

RODEHUTSCORD, M. et al. Effect of phosphorus intake on faecal and non-faecal phosphorus excretion in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and the consequences for comparative phosphorus availability studies. Aquaculture, [S.L.], v. 188, n. 3-4, p. 383-398, set. 2000. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486(00)00341-0.

RODRIGUES J. Degradação de compostos tóxicos e de fatores antinutricionais da torta de pinhão manso por Pleurotus ostreatus, [s.d.]. 2009. Disponível em:

https://locus.ufv.br/server/api/core/bitstreams/7cb69e0e-d6cc-4b49-b835-b41083e7d450/content.

SARKAR, B., et al. Nanotechnology: a next-generation tool for sustainable aquaculture. **Aquacultur**e, v. 546, p. 737330, jan. 2022. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737330

SASINA, O, *et al*. Pectin-Based Encapsulation Systems for Bioactive Components. **Biomaterials in Microencapsulation.** 2024. DOI: 10.5772/intechopen.1004742

SELLE, P. et al. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science And Technology**, v. 135, n. 1-2, p. 1-41, maio 2007. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.06.010

SHARMA, Archita et al. Employment of polysaccharides in enzyme immobilization. **Reactive And Functional Polymers**, v. 167, p. 105005, out. 2021. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2021.105005

SHU, B, et al. Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying, **Journal of Food Engineering,** Volume 76, Issue 4, 2006. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.05.062.

SIBAJA A., et al. Trends in aquaculture sciences: from now to use of nanotechnology for disease control. **Reviews In Aquaculture**, v. 11, n. 1, p. 119-132, 28 dez. 2017. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/raq.12229

SIBAJA, A. Desenvolvimento de sistemas para a formulação de dietas em peixes baseados em nanopartículas de quitosana e pcl contendo ácido ascórbico. Dissertação (Doutorado), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Sorocaba. 2021. http://hdl.handle.net/11449/214150.

SIBAJA, A. Desenvolvimento de sistemas para controle de doenças baseados em nanoparticulas de zeina contendo eugenol e óleo essencial de alho. Dissertação (Mestrado), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Sorocaba. 2017, p.54. http://hdl.handle.net/11449/151186.

SINGH, H., et al. Nanotechnology Applications in Functional Foods; Opportunities and Challenges. **Preventive Nutrition And Food Science**, v. 21, n. 1, p. 1-8, 31 mar. 2016. The Korean Society of Food Science and Nutrition. http://dx.doi.org/10.3746/pnf.2016.21.1.1.

SIRIN, Y.; et al. Dephytinization of food stuffs by phytase of Geobacillus sp. TF16 immobilized in chitosan and calcium-alginate**. International Journal of Food Properties**, v. 20, n. 12, p. 2911–2922, 2 dez. 2017.

SOUSA, Luciono, Nanopartículas de quitosana e carragenanas: produção, caracterização e avaliação preliminar como sistema de liberação controlada de 5-fluorouracil.Tesis (Doutor em Bioqímica), Universidade Federal Do Ceará. Fortaleza. 2013, p.68. Disponible en internet: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/18832/1/2013_tese_lschaves.pdf

SOLOVYEV, MM, *et al.* Dependência dos valores de pH no trato digestivo de peixes de água doce em relação a alguns fatores abióticos e bióticos. **Hydrobiologia**. 67–85 (2018). https://doi.org/10.1007/s10750-017-3383-0

STROBEL, S., et al. Comparative technoeconomic process analysis of industrial-scale microencapsulation of bioactives in cross-linked alginate. **Journal Of Food Engineering**, v. 266, p. 109695, fev. 2020. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.109695.

SUGIURA, S., et al. The pathology of phosphorus deficiency in fish – a review. **Journal Of Fish Diseases**, v. 27, n. 5, p. 255-265, maio 2004. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2761.2004.00527.x.

SARABANDI, Kh. *et al.* Effect of different carriers on microstructure and physical characteristics of spray dried apple juice concentrate. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 8, p. 3098–3109, ago. 2018.

STETEFELD, Jörg; MCKENNA, Sean A.; PATEL, Trushar R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. **Biophysical Reviews**, v. 8, n. 4, p. 409–427, dez. 2016.

SUN, Wanyi *et al.* Influences of pH on Gelling and Digestion–Fermentation Properties of Fish Gelatin–Polysaccharide Hydrogels. **Foods**, v. 14, n. 15, p. 2631, 26 jul. 2025.

TARIFA, M., *et al*. Efeito da microencapsulação em microgéis de pectina Lactobacillus Pracasei Subsp: Toleran na formulação de alimentos funcionais. V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos. 2019. http://hdl.handle.net/11336/159871

TELLO F . Partículas de alginato e pectina produzidas por gelificação iônica e recobertas com proteínas. 2014. 190 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, SP. https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2014.928289

TARIFA, M., *et al*. Efeito da microencapsulação em microgéis de pectina LactobacillusPracasei Subsp: Toleran na formulação de alimentos funcionais. V Congreso Argentino de Microbiología de Alimentos. 2019. http://hdl.handle.net/11336/159871

THAKUR, B, *et al*. Química e usos da pectina – uma revisão. Revisões Críticas em **Ciência Alimentar e Nutrição.** 37(1), 47-73. 2009. https://doi.org/10.1080/10408399709527767

TÜRK, M., et al. Reduction in the Levels of Phytate During Wholemeal Bread Making; Effect of Yeast and Wheat Phytases. **Journal Of Cereal Science**, v. 23, n. 3, p. 257-264, maio 1996. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1006/jcrs.1996.0026.

VALENTI, Wagner C. et al. Aquaculture in Brazil: past, present and future. **Aquaculture Reports,** v. 19, p. 100611, mar. 2021. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100611.

VANDENBERG, G., *et al*. Encapsulation of microbial phytase: Effects on phosphorus bioavailability in rainbow trout (Oncorhynchus mykiss), **Animal Feed Science and Technology,** Volume 169, 2011. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.07.001.

VASUDEVAN, U., et al. Thermostable phytase in feed and fuel industries. **Bioresource Technology**, v. 278, p. 400-407, abr. 2019. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.065.

VATS, P., et al. Production studies and catalytic properties of phytases (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview. **Enzyme And Microbial Technology**, v. 35, n. 1, p. 3-14, jul. 2004. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.enzmictec.2004.03.010.

VIELMA, J., et al. Growth, bone mineralization, and heat and low oxygen tolerance in European whitefish (Coregonus lavaretus L.) fed with graded levels of phosphorus. **Aquacultur**e, [S.L.], v. 212, n. 1-4, p. 321-333, set. 2002. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/s0044-8486(02)00039-x

WANG J et al. Spray-drying of protein/polysaccharide complexes: Dissociation of the effects of shearing and heating,Food Chemistry, Volume 297, 2019, 124943, ISSN 0308-8146, https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.06.010

WENG, Y., et al. Alginate Particles for Enzyme Immobilization Using Spray Drying. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, v. 70, n. 23, p. 7139-7147, 1 jun. 2022. American Chemical Society (ACS). http://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.2c02298.

WENG, Y., et al. Encapsulation of enzymes in food industry using spray drying: recent advances and process scale-ups. Critical Reviews **In Food Science And Nutrition**, p. 1-18, 27 mar. 2023. Informa UK Limited. http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2023.2193982.

WENG, Y., et al. Effects of coating on recovery of *Escherichia coli*-derived phytase under different steam pelleting conditions. **Transl Anim Sci**. 2025. doi: 10.1093/tas/txaf035. PMID: 40585274; PMCID: PMC12203073.

WENG, Y., et al. Alginate-based materials for enzyme encapsulation. **Advances in Colloid and Interface Science**, 318, 102957, 2023. https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.102957

YANG, S., et al. Influence of dietary phosphorus levels on growth, metabolic response and body composition of juvenile silver perch (Bidyanus bidyanus). **Aquaculture,** v. 253, n. 1-4, p. 592-601, mar. 2006. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.09.002.

YAO, W., et al. Dietary protease, carbohydrase and micro-encapsulated organic acid salts individually or in combination improved growth, feed utilization and intestinal histology

of Pacific white shrimp. **Aquaculture**, v. 503, p. 88-95, mar. 2019. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.12.064.

YUAN, Y., *et al*. Surface coating of zein nanoparticles to improve the application of bioactive compounds. **Trends in Food Science and Technology**. 2022. vol. 120, pp. 1-15. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.025

ZHANG H. et al,. Preparation of Alginate-Based Biomaterials and Their Applications in Biomedicine. Mar Drugs. 2021 May 10;19(5):264. doi: 10.3390/md19050264. PMID: 34068547; PMCID: PMC8150954.

ZHANG, H. Foam and interfacial properties of Tween 20–bovine serum albumin systems. Colloids And Surfaces A: **Physicochemical and Engineering Aspects**, [S.L.], v. 416, p. 23-31, jan. 2013. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2012.10.028.

ZHANG, H., et al. Recent advancements in encapsulation of chitosan-based enzymes and their applications in food industry. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2022. https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2086851

ZLAUGOTNE, B,. et al. Advantages and disadvantages of using more sustainable ingredients in fish feed. Heliyon, v. 8, n. 9, p. 1-12, set. 2022. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10527.